「糖質材料の新展開」特集

生理活性を有する酸性多糖

南 澤 俊 和・畑 中 研 一

1. はじめに

多糖類は我々の最も身近に存在する物質の一つであるためその研究の歴史も古く、これまでに多くの研究者たちによって、いろいろな動植物から多種多様な多糖類が発見され、報告されてきた¹⁻³⁾。時を追うにつれてそれらの存在意義、生物学的役割は次々と明らかにされ、化学構造についても一次構造から高次構造へと、より本質的な研究が活発に展開されるようになった。一方でそれらの研究を支えている技術の進歩も著しい。種々の分離精製技術や構造決定反応、また NMR (核磁気共鳴) や MS (質量分析) をはじめとする各種分析機器自体が飛躍的な発展を遂げ、最近ではコンピューター・シミュレーションを駆使した研究も珍しくなくなっている^{4,5)}。これらの進歩のおかげで、多糖によっては規則的な配列構造の中にも不規則な官能基配列や枝糖が見出されたものもある。また、ある多糖ではタンパク質と結合して複雑な複合体分子を形成し、生理活性を発現していることが明らかになったものもある。

近年、相次いでいくつかの多糖類が、医薬品としての地位を授かるべく臨床試験の場に登場している。そもそも多糖類が医薬品として使われるようになったのは、第二次大戦中にスウェーデンで開発された血漿増量剤、デキストランに始まるが、現在では抗血栓剤ヘパリン、抗腫瘍剤レンチナン、変形性膝関節症治療剤ヒアルロンタンなど、実際の医療の現場で活躍する多糖類が数を増してきている。有名な抗ガン剤、丸山ワクチンも、結核菌から抽出した多糖類がその有効成分であると言われていた。考えてみると、現在盛んに使用されている化学合成によ

る医薬品は、自然の生薬を用いた天然物医薬とは違って生体内に土足で侵入するようなものであるという印象が強い。思いがけぬ副作用が突然に起こる危険性を常に持ち合わせているのである。人体が受けるダメージも大きい。生体に優しく、そして環境にも優しい天然物医薬を開発することは、我々にとって大変に重要な意義を持つてくる。今現在、毎年数多くの天然多糖類について様々な薬理活性が報告されている現況にあり、これから先、ますます多糖系医薬は拡大していくものと思っていて間違いない。

さて、このように今や天然物医薬開発の面から大きく注目を浴びるようになった多糖類であるが、それらを実際の臨床の場に送り出す以前に、その薬理活性と化学構造との相関を明らかにしておくことは極めて重要である。毒性に関しても同じことが言える。糖残基の種類や結合様式はもちろんのこと、官能基の種類とその結合位置、分子量など、多糖の構造を特徴づける因子は非常に多い。それら多くの要素の中から活性に対する構造の必然性を明らかにすることは、大変な時間と労力また技術を要する作業であるが、その必然性を解明することによって活性発現のメカニズムを知る上での重要な情報を得ることができ、あるいは天然に稀少な多糖であってもそこで得た知見を利用して、アミロースやキチンなど安価かつ豊富に得られる多糖に修飾を施すことで、類似活性多糖を大量に得ることができる可能性もある。現在のところは困難の多い多糖の化学合成であるが、構造的に幅広く、しかも安価に多糖を合成できるような時代が訪れば、知見を基にして自在に活性の強さやその持続時間をコントロールできるような多糖医薬を開発することも可能に

南澤俊和氏

畑中研一氏

Acidic Polysaccharides Having Biological Activities

著者紹介 TOSHIKAZU MINAMISAWA^{*1} and KENICHI HATANAKA^{*2}^{*1} Tokyo Research Institute, Seikagaku Corporation

生化学工業株式会社東京研究所

^{*2} Department of Biomolecular Engineering, Tokyo Institute of Technology

東京工業大学生命理工学部生体分子工学科 助教授、工学博士

著者らはお二人とも糖質が専門で、中でも南澤氏は天然糖鎖の化学改変を、畑中氏は生理活性糖鎖の合成や評価をはじめとして幅広く活躍されている。畑中氏は著書に Polysaccharides in Medicine and Biotechnology (1995) 他多数。今回は、生理活性を有する天然多糖のうち酸性の置換基に注目して解説していただいた。

なるかもしれない。

天然多糖類には、種々の官能基を鎖中に持ち、それが生理活性を発現していると考えられている例がいくつか存在する。多糖鎖中のカルボキシル基や硫酸基は、その負電荷によって生体内の様々なタンパク質や金属イオンなどと相互作用し得るため、活性の本質としてこれらの官能基を最重要視した研究は不可欠である。本稿では、酸性官能基を持つ様々な天然生理活性多糖類について紹介する。

2. カルボキシル基を有する天然多糖類

天然に存在するカルボキシル基含有多糖類は、意外と種類が多い(図1)。ペクチン酸やアルギン酸、またムラミン酸といったところが昔からよく知られているが、その他にも魚卵表層にはポリシアル酸が、肺炎双球菌や根粒菌などの夾膜には数タイプのウロン酸含有多糖など

図1 天然のカルボキシル基含有多糖類

図2 ムラミルジペプチドの構造

が見出されている⁶⁾。ここでは、現在薬理活性が報告されているアルギン酸とムラミン酸について記述する。

アルギン酸はD-マンヌロン酸とL-グルロン酸が種々の割合で直鎖状に結合したポリウロン酸である。天然界では褐藻一般の細胞間質を充填しているほか、*Pseudomonas* sp.の菌体外分泌物としても得ることができる。褐藻由来のものは資源として豊富に存在するため比較的よく研究されており、起源(種属、生育場所、組織など)の違いによって二種のウロン酸組成比が著しく異なることが昔から知られている。アルギン酸が多糖類のなかでも非常に有名なのは、言うまでもなく特徴的なゲルを形成するからである。この多糖はフリーのカルボン酸の状態では水に不溶なのであるが、アルカリ性水溶液には易溶で、高粘性の溶液を与える。そして多価金属イオンを添加すると再び不溶性となり、ここでゲルを形成する。一般にゲル形成にはカルシウム塩が使われている。アルギン酸ゲルが多く利用されているのは食品分野で、アイスクリームや菓子用のゼリー、ミートソースやシロップなど、挙げればきりが無い。また医療用ゲルとして用いるための研究も進んできており、大変興味深い。アルギン酸ゲルは、添加する塩の量やその種類、pH、キレート剤などによってゲルの硬さを容易に調節できる。

1984年に藤原らは、ホンダワラ(*Sargassum fulvellum*)の藻体からアルギン酸を抽出精製し、それが抗腫瘍活性を有することを報告した⁷⁾。続いて彼らはマンヌロン酸とグルロン酸の相対含率の異なる七種類のアルギン酸(それぞれ異なる藻体由来)を抽出し、うち分子量の揃った五種類について抗腫瘍性を検討した。その結果、マンヌロン酸含率が高いものほど抗腫瘍性が高いという、かなりはっきりとした結論を得ている^{8,9)}。現在作用機構が調べられているが、マンヌロン酸含量の高いアルギン酸は、IL-1 β 、TNF- α 、IFN- γ の産生を効果的に高めているということが確認された¹⁰⁾。今後は、マンヌロン酸残基を中心とした高次構造と活性との相関が議論の対象になってくるものと思われる。ちなみに、アルギン酸のマンヌロン酸とグルロン酸の相対含量比は、赤外吸収スペクトル^{11,12)}や¹³C-NMRスペクトル¹³⁾、CDスペクトルなどから簡単に計算することができる^{14,15)}。

1942年、Freundは細菌の細胞壁に脊椎動物の免疫力を高める活性があることを発見した。結核菌などの死菌の細胞壁だけを取り出して動物に与えると、感染症やガンから回復する力、すなわち免疫力が高まったのである。Freundはこの作用を免疫アジュバンド活性と名付けた。年を経て、グラム陽性菌の細胞壁はその組成中の40-60%がペプチドグリカンであることがわかり、1959年Saltonらの仕事によって、グリカン部分がN-アセチ

ルグルコサミンと *N*-アセチルムラミン酸が交互に配列した直鎖構造であることがはっきりした。更に、ムラミン酸残基のカルボキシル基にはペプチド鎖が結合し、架橋によって三次元的な網目構造をとっていることがわかっていく。細菌の種類によってペプチド構造やムラミン酸カルボキシル基の置換度、架橋様式などが異なっているため、起源によって細胞壁の陰電荷やアジュバント活性には差が認められる。

細菌ペプチドグリカンの糖鎖部分とペプチド部分のいずれを除去してもアジュバント活性が失われるということが解ると、芝らはこの活性の最小構造単位を突き止めるために、ありとあらゆるペプチドグリカン構造体を化学合成した¹⁶⁻¹⁸⁾。そして1974年、アジュバント活性は菌の種類によらず細胞壁中に共通に存在する *N*-Acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine (ムラミルジペプチド) の構造に基づくことが明らかにされた (図2)。これ以降、他の研究者らも参入して数多くのムラミルジペプチド類縁体が合成されるとともにそれらの活性測定が行われている¹⁹⁻²¹⁾。特に、ムラミン酸の2位をアセトアミド基から水酸基に変えると活性の上昇が見られることは、とても興味深い²⁰⁾。

グリコサミノグリカンの項でも述べるが、硫酸基を持つ多糖類は抗血液凝固活性や抗 HIV 活性を示すことが一般に言われており、その対照にカルボキシル基含有多糖類についても活性測定をしている例がいくつかある。しかし結果としては、抗血液凝固活性に対してアルギン酸とコロミン酸ともに活性なし^{22, 23)}、抗 HIV 活性に対してアルギン酸が活性なし²⁴⁾ となっており、酸性官能基を持っていたとしても (解離定数が異なると) 必ずしも同様の生理活性を示すとは限らないという事実がうかがえる。

3. 天然硫酸化多糖類

カラゲナンは、ツノマタ属やスギノリ属などの紅藻類から得られる粘質多糖である。この多糖について、稀薄塩化カリウム水溶液中で沈殿を生じる画分を κ -カラゲナン、上清に残存する画分を λ -カラゲナンと称することが1953年に提唱され²⁵⁾、以後現在に至るまで、カラゲナンの分画化およびその微細化学構造についての研究が活発に行われている²⁶⁻²⁸⁾。今ではカラゲナンは7種類以上に分画され、それぞれの化学構造が決定されている。カラゲナンの代表格である κ -カラゲナンは、D-ガラクトースと3,6-アンヒドロ-D-ガラクトースとが交互に結合した直鎖状の多糖であり、特に硫酸基がD-ガラクトース残基の4位に結合したものをいう。しかし他のタイプについては構造的に不均一なものの一部として捉えられており、ゲル形成の傾向によってタイプが分けら

れている。ゲル形成能と構造との関係は、大ざっぱではあるが比較的初期に明らかにされ、3,6-アンヒドロ糖残基が多くて硫酸基が少ないほどゲル形成能が強く、逆にアンヒドロ糖が少なく硫酸基が多いほど粘稠な溶液を与えることがわかっている²⁶⁾。

現在、カラゲナンは医薬品としては使用されていないが、いくつかの薬理活性が報告されており興味深い。一般に硫酸基をもつ多糖類の薬理活性として必ず調べられるのが抗凝血活性であるが、この多糖についてもかなり昔から活性の測定が行われている^{22, 29)}。それぞれの研究において共通に得られる結果は κ -/ λ -タイプのカラゲナンに較べて λ -カラゲナンの活性が明らかに高いということであり、これは藻体が異なっても λ -画分には必ず高い活性を発現する構造的要素があるということを示唆している。

1987年に Parish らは、カラゲナンがラット乳ガン細胞の肺転移を抑制することを見出している³⁰⁾。これは、ガン細胞が転移する際に基底膜を通過するために産生するヘパラーゼ (ヘパリン硫酸プロテオグリカン分解酵素) を、カラゲナンが阻害していることによる活性であることが明らかにされた。この活性についても、 κ -タイプに較べて λ -タイプのほうが高い活性を示している。さらに同年、中島らは紅藻抽出物にエイズウイルスの逆転写酵素を阻害する活性があることを発見し³¹⁾、活性の本体がカラゲナンであることを突き止めた。このことは水本らによっても確かめられた²⁴⁾ が、カラゲナンはもともと抗凝血活性の強い物質であるためエイズ治療薬としての可能性が薄いのが惜まれる。

フコイダンは褐藻類に含まれる吸湿性の強い粘質多糖類として古くから知られているものである。この多糖がヘパリン様の抗凝血活性を示すことがわかると、1962年に Bernardi らはフコイダンの抗凝血活性について非常に詳しい研究成果を発表した³²⁾。最近では研究者の関心は、抗凝血活性の発現メカニズムや化学構造との相関に移ってきている。1989年に Church らによって、フコイダンの抗凝血活性が血漿セリンプロテアーゼのひとつであるヘパリンコファクター II を介するものであることが証明され³³⁾、同様の事実が名雲らによっても藻体を異にしながら証明された³⁴⁾。関心が持たれる点は、Church らが実験に用いたヒバマタ *Fucus vesiculosus* 由来のフコイダンは α -(1 $\rightarrow$ 2)-結合 D-フコピラナンを主鎖とする構造であるのに対して、名雲らが用いたクロメ *Ecklonia kurome* 由来のものは α -(1 $\rightarrow$ 3)-結合を主鎖としていることである。名雲らは両者の活性を同一条件で測定し、 α -(1 $\rightarrow$ 3)-結合のもののほうが高い活性を示すことを確かめた³⁵⁾。また彼らは *Ecklonia kurome*

由来のフコイダンについてその構造と抗凝血活性との相関を系統的に調べ³⁶⁻³⁹⁾、フコイダンの活性には硫酸基含量が大きく関係し、分子量も少なからず影響していることを確認した。なおこの抗凝血活性以外にも、フコイダンの生理活性としてヒト精子と透明体の結合阻害⁴⁰⁾、抗 HIV 活性²⁴⁾、ガン転移阻害³⁰⁾などが報告されている。

4. グリコサミノグリカン

グリコサミノグリカン (GAG と略記) は動物の結合組織や体液に広く分布する複合多糖類である。この多糖類は通常生体内において遊離の多糖としては存在せず、タンパク質 (コアタンパク) と共有結合して多糖-タンパク質複合体、すなわちプロテオグリカンの形で存在している。今までに数多くのプロテオグリカンが次々と同定され、その種類が多様多様になるとともに、それらが生体内で様々な細胞活動に関与していることが明らかになってきた⁴¹⁻⁴⁴⁾。本稿では紙面の都合上プロテオグリカンとしての性質に言及することができないため、その糖鎖、すなわち GAG の化学構造と性質について述べる。

GAG の化学構造は、非常に複雑極まりない。基本骨格はいずれもウロン酸とヘキサミンが結合した二糖の繰り返し直鎖構造であるが、それらのほとんどが生合成途中で多彩な修飾を受ける^{45,46)}。その主なものは、(1)ウロン酸 5 位のエピ化 (グルクロン酸→イズロン酸)、(2)糖尿酸基の硫酸化 (O-硫酸化)、(3)アミノ基の硫酸化 (N-硫酸化) である。これらの修飾が見かけ上ランダムに起こっているために、GAG の微細構造が多様化している。当然のことながら、この構造的不均一性は構造解析を難しくし、永年研究者の頭を悩ませてきた。最近になって高速液体クロマトグラフィー (HPLC) や電気泳動などの分離技術、NMR などの機器分析法、糖鎖特異的分解酵素や抗体などが開発され、やっと GAG の構造解析のための基盤が整ってきたということができよう^{47,48)}。

GAG はこれまでに紹介した多糖類と同様その長鎖構造の上に多数の硫酸基やカルボキシル基をもつため、トータルとして非常に強い陰電荷を持っている。それゆえポリマーとしての保水性と陽イオン保持性が強く、粘弾性が高い。更に糖鎖間での相互作用もあり、単独でメッシュ状の立体構造をとるものすらある。当然生体内では種々の環境また局面に対して物理的、化学的な影響を与えて生理活性を発現しているということは想像に難くない。一方、GAG を生体に投与すると著しい薬理活性を示すという例が数々知られており、そちらも興味深い。ここでは、GAG の代表としてヘパリンとヒアルロソンの生理活性および薬理活性について、解っていることを

簡潔に紹介する。詳細な説明は、総説⁴⁹⁾に譲る。

1916年に McLean はウシの肝組織から血液凝固阻止作用を有する物質を分離し、Howell がこれをヘパリンと名付けた。ヘパリンはセルグリシンと呼ばれるプロテオグリカンにのみ見られ、それが肥満細胞の顆粒中に多く含まれているため主として肝や肺、小腸などから単離される。

ヘパリンの構造についてはその著しい抗凝血活性のため、はやくから多くの研究が行われた。現在一般化している構造は、 $(4\text{IdoA } \alpha 1 \rightarrow 4\text{GlcNAc } \alpha 1 \rightarrow)_n$ という基本構造のなかで構成グルコサミン残基の約 80% が N-硫酸化されており、O-硫酸含量が N-硫酸含量を上回っている、というものである。ウロン酸組成は IdoA が約 70% を占め、残りが GlcA である。

ヘパリンを血中に投与すると、血液凝固カスケード中のセリンプロテアーゼであるトロンビンとそのインヒビターであるアンチトロンビン III (AT III) との複合体形成が著しく促進され、血液凝固が抑制される^{47,50)}。幸いなことにこの活性に関する研究は、ヘパリンの化学構造と AT III との特異的結合性の関係を解明する方向に進められた。市販のヘパリンを AT III 固定化カラムに流すと、AT III 高親和性画分 (約 3 分の 1) と非吸着低親和性画分とはっきり分けられる。高親和性画分の全活性は分画前の全活性の約 90% に相当するため、このことで活性の本質が高親和性画分に存在することが示された。その後の膨大な (各種ヘパリン分解法による) 研究により、1982年に Lindahl のグループによって、AT III に結合する最小ヘパリンフラグメントが五糖構造であることが確定された^{51,52)}。特にこの五糖の中のグルコサミン残基に存在する 3 位の硫酸基が活性発現のために絶対不可欠であることが、van Boeckel らによる一連の化学合成研究⁵³⁾によって明らかになっている。ただし AT III によるトロンビン不活性化のためにはヘパリンが両タンパク分子に結合する必要がある、実際には 18 糖以上の長さが必要であることも示されている。

抗血液凝固活性の他にもヘパリンには多くの生理活性が報告されている。特に脂血清澄作用⁵⁴⁾、ヘパリン結合性細胞増殖因子の活性制御⁵⁵⁻⁵⁸⁾、抗 HIV 活性²⁴⁾、ガン細胞の転移抑制³⁰⁾、平滑筋細胞の増殖抑制^{59,60)}などが比較的名である。これらの活性について、構造と活性との相関を解明するための研究が今も続けられている。ヘパリンは動物体内から抽出されるものだけに微量資源なのであるが、同時に薬理活性の花園といえるほどに多彩な機能を持つ重要な物質である。今後もさらに多くの新規な性質が見出される可能性が大いにあり、今も昔も、最もホットな多糖であると言えるかもしれない。

ヒアルロナン (ヒアルロン酸) は *N*-アセチルグルコサミンとグルクロン酸が交互に結合した直鎖状の高分子量多糖である。この多糖は眼硝子体のほか靱帯、皮膚、鶏冠、関節液などに多く含まれているが、他の GAG とは異なり硫酸基を持たず、コアタンパクの存在も確認されていない。

ヒアルロナンは 1 g で 6000 mL もの水を保持できるほど親水性が高く、生体内ではゲル状物質として存在している⁶¹⁾。この物性を利用して変形性膝関節炎治療剤、肩関節周囲炎治療剤、点眼剤などとして、ヒアルロナンはすでに臨床の現場で活躍の場を得ている⁶²⁾。また現在、皮膚創傷被覆剤や DDS キャリヤーとしての開発も進んでいる。一方ヒアルロナンオリゴマーが血管新生を促進するとの報告⁶³⁾もあり、興味深い。なおこの多糖は、抗凝血活性をほとんど示さない⁶⁴⁾。

今後ヒアルロナンの薬理活性を考える上で注目すべきことは、組織の創傷や腫瘍の増殖、浸潤に伴うこの物質の一過性出現である。この生理現象におけるヒアルロナンの必然性を解明することができれば、この多糖によってまた新たな薬剤を開発することができるであろう。

本稿では説明を省略したが、一部のヘパラン硫酸^{64, 65)}やデルマトン硫酸^{64, 66, 67)}、コンドロイチン硫酸 D, E, K⁶⁸⁾、更に近年発見された分枝型グリコサミノグリカン DHG⁶⁹⁾なども抗凝血活性を示すことが知られている。またコンドロイチン硫酸は経口薬、注射液、点眼薬などとして製剤されており、症候性神経痛、腰痛症、慢性肝炎や関節痛などに効果を持つことがわかっている。

5. おわりに

本項では、天然の酸性多糖類、特に顕著な生理活性を示すものについて紹介した。これらの多糖類はいずれも医薬品としての候補になり得る (医薬品になっている) ものであり、活性発現の機構や構造活性相関は必ずや明らかにしておかなければならない。そのために行われている研究 (特に酸性多糖の化学合成) に関しては、別稿に譲ることとする。

引用文献

1. 阿武喜美子, 瀬野信子, 「糖化学の基礎」, 講談社, (1984).
2. 原田篤也, 三崎旭編, 「総合多糖類科学 (下)」, 講談社, (1974).
3. 宮崎利夫編, 「多糖の構造と生理活性」, 朝倉書店, (1990).
4. 小川智也, 楠本正一編, 「糖—その多様性を探る」, 化学同人, (1992).

5. P. D. J. Grootenhuys et al., *Trends Biotechnol.*, **12**, 9 (1994).
6. V. Grescenzi, M. Dentini, T. Coviello, *Biophys. Chem.*, **41**, 61 (1991).
7. M. Fujihara, N. Iijima, I. Yamamoto, T. Nagumo, *Carbohydr. Res.*, **125**, 97 (1984).
8. M. Fujihara, T. Nagumo, *Carbohydr. Res.*, **224**, 343 (1992).
9. M. Fujihara, T. Nagumo, *Carbohydr. Res.*, **243**, 211 (1992).
10. 藤原三知雄ら, 第16回糖質シンポジウム講演要旨集, 22 (1994).
11. W. Mackie, *Carbohydr. Res.*, **20**, 413 (1971).
12. M. P. Filippov, R. Kohn, *Chem. Zvesti.*, **28**, 817 (1974).
13. H. Grasdalen, B. Larsen, O. Smidsrod, *Carbohydr. Res.*, **89**, 179 (1981).
14. 西澤一俊, 富士経済研究報告, **33**, 1 (1988).
15. 西澤一俊, 富士経済研究報告, **34**, 1 (1988).
16. S. Kusumoto, Y. Tarumi, K. Ikenaga, T. Shiba, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **49**, 533 (1976).
17. 芝哲夫, 化学と生物, **16**, 583 (1978).
18. 芝哲夫, 楠本正一, 化学, **35**, 402 (1980).
19. T. Shiba et al., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **51**, 3307 (1978).
20. M. Kiso et al., *Carbohydr. Res.*, **79**, c17 (1980).
21. A. Hasegawa et al., *Carbohydr. Res.*, **79**, c20 (1980).
22. K. C. Guven, Y. Ozsoy, O. N. Ultin, *Bot. Mar.*, **34**, 429 (1991).
23. F. C. Church et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **148**, 362 (1987).
24. K. Mizumoto et al., *Jpn. J. Exp. Med.*, **58**, 145 (1988).
25. D. B. Smith, W. H. Cook, *Arch. Biochem. Biophys.*, **45**, 232 (1953).
26. A. J. Pernas, O. Smidsrod, B. Larsen, A. Haug, *Acta. Chem. Scand.*, **21**, 98 (1967).
27. D. A. Rees, *J. Chem. Soc.*, 1821 (1963).
28. T. C. S. Dolan, D. A. Rees, *J. Chem. Soc.*, 3534 (1965).
29. G. Kindness, W. F. Long, F. B. Williamson, *Thromb. Res.*, **15**, 49 (1979).
30. C. R. Parish et al., *Int. J. Cancer*, **40**, 511 (1987).
31. H. Nakashima et al., *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **113**, 413 (1987).
32. G. Bernardi, G. F. Springer, *J. Biol. Chem.*, **237**, 75 (1962).

33. F. C. Church et al., *J. Biol. Chem.*, **264**, 3618 (1989).
34. T. Nishino, Y. Aizu, T. Nagumo, *Thromb. Res.*, **62**, 765 (1991).
35. 西野貴司, 浦宏明, 名雲照一, 第16回糖質シンポジウム講演要旨集, 66 (1994).
36. T. Nishino, Y. Aizu, T. Nagumo, *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 791 (1991).
37. T. Nishino, T. Nagumo, *Carbohydr. Res.*, **214**, 193 (1991).
38. T. Nishino, Y. Aizu, T. Nagumo, *Thromb. Res.*, **64**, 723 (1991).
39. T. Nishino, T. Nagumo, *Carbohydr. Res.*, **229**, 355 (1992).
40. M. S. Patankar et al., *J. Biol. Chem.*, **268**, 21770 (1993).
41. L. Kjellen, U. Lindahl, *Ann. Rev. Biochem.*, **60**, 443 (1991).
42. E. Ruoslahti, *J. Biol. Chem.*, **264**, 13369 (1989).
43. A. R. Poole, *Biochem. J.*, **236**, 1 (1986).
44. M. Jalkanen, K. Elenius, A. Rapraeger, *Trend. Glycosci. Glycotech.*, **5**, 107 (1993).
45. M. Kusche, U. Lindahl, *J. Biol. Chem.*, **265**, 15403 (1990).
46. U. Lindahl, D. S. Feingold, L. Roden, *TIBS*, **11**, 221 (1986).
47. 糖鎖工学編集委員会編, 「糖鎖工学」, 産業調査会, (1992).
48. 永井克孝編, 「糖鎖 I - 糖鎖と生命 -」, 東京化学同人, (1994).
49. R. L. Jackson, S. J. Busch, A. D. Cardin, *Physiol. Rev.*, **71**, 481 (1991).
50. 小出武比古, 腎臓, **13**, 1 (1990).
51. L. Thunberg, G. Backstrom, U. Lindahl, *Carbohydr. Res.*, **100**, 393 (1982).
52. U. Lindahl, G. Backstrom, L. Thunberg, *J. Biol. Chem.*, **258**, 9826 (1983).
53. C. A. A. van Boeckel, M. Petitou, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **32**, 1671 (1993).
54. G. Bengtsson et al., *Biochem. J.*, **189**, 625 (1980).
55. D. Gospodarowicz, J. Cheng, *J. Cell. Physiol.*, **128**, 475 (1986).
56. T. K. Rosengart, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **152**, 432 (1988).
57. J. Sudhalter et al., *J. Biol. Chem.*, **264**, 6892 (1989).
58. D. J. Tyrrell et al., *J. Biol. Chem.*, **268**, 4684 (1993).
59. J. J. Castellet Jr. et al., *J. Cell Biol.*, **102**, 1979 (1986).
60. T. C. Wright Jr. et al., *J. Biol. Chem.*, **264**, 1534 (1989).
61. 日本化学会編, 「有機高分子ゲル」, 学会出版センター, (1990).
62. 「糖鎖工学と医薬品開発」, 薬業時報社, (1993).
63. D. C. West et al., *Science*, **228**, 1324 (1985).
64. D. M. Tollefsen, C. A. Pestka, W. J. Monatfo, *J. Biol. Chem.*, **258**, 6713 (1983).
65. G. Mertens et al., *J. Biol. Chem.*, **267**, 20435 (1992).
66. D. M. Tollefsen, *Nouv. Rev. Fr. Hematol.*, **26**, 233 (1984).
67. M. M. Maimone, D. M. Tollefsen, *J. Biol. Chem.*, **265**, 18263 (1990).
68. M. F. Scully, V. Ellis, N. Seno, V. V. Kakkar, *Biochem. J.*, **264**, 547 (1988).
69. K.-I. Yoshida et al., *Tetrahedron Lett.*, **33**, 4959 (1992).

(平成 7 年10月12日受理)